M A N U E L   T E C H N I Q U E

Kit Maxwell® CSC Blood DNA

Mode D’emploi Du Produit
AS1321

Ce produit est destiné à être vendu uniquement aux États-Unis et Canada.

Attention : manier les cartouches avec précaution – les bords de la bande adhésive peuvent être tranchants.

Révisé 1/15
TM374



Kit Maxwell® CSC Blood DNA

Toute la documentation technique est disponible sur Internet à l'adresse www.promega.com/protocols/
Veuillez consulter ce site Internet pour vérifier que vous utilisez la version la plus à jour de ce manuel technique. Si vous avez des questions sur l'utilisation de ce système, veuillez contacter le service technique de Promega. Adresse électronique : techserv@promega.com.

1. Description

Le Kit Maxwell® CSC Blood DNA[a] est utilisé en conjonction avec l'appareil Maxwell® CSC pour permettre la purification automatisée, efficace et aisée d'ADN génomique (ADNg) à partir d'échantillons de sang humain. L'appareil Maxwell® CSC est fourni avec des méthodes préprogrammées de purification et est conçu pour être utilisé avec des cartouches de réactifs pré-dispensés et des réactifs supplémentaires fournis dans le kit, pour une simplicité et une facilité d'emploi maximales. Cet appareil peut traiter jusqu'à 16 échantillons en 40 minutes. L'ADN purifié peut être utilisé directement dans diverses applications ultérieures, telles que la PCR.



Le Kit Maxwell® CSC Blood DNA purifie les acides nucléiques à l'aide d'un nouveau type de particules paramagnétiques, offrant une phase solide mobile qui permet d'optimiser la capture des échantillons, le lavage et la purification de l'ADNg. Ces particules lient les acides nucléiques sur une matrice de cellulose, offrant une plus grande capacité et produisant des éluats plus purs que les méthodes de purification traditionnelles de l'ADN utilisant la silice. Le Maxwell® CSC est un appareil de manipulation des particules magnétiques. Il permet à l'ADNg de se lier efficacement aux particules paramagnétiques dans le premier puits d'une cartouche préremplie et fait progresser l'échantillon d'un puits à l'autre de la cartouche en le mélangeant au cours du traitement. Cette approche de capture magnétique évite certains problèmes courants propres à d'autres systèmes automatisés fréquemment utilisés, tels que l'obstruction des cônes de pipettes ou le transfert incomplet des réactifs, pouvant entraîner une purification suboptimale.

2. Composants du produit et conditions de stockage

PRODUIT	CONDITIONNEMENT	RÉF.
Kit Maxwell® CSC Blood DNA	**48 préparations**	**AS1321**

Pour le diagnostic in vitro. Destiné à un usage professionnel uniquement. Contient assez de réactifs pour 48 purifications automatisées à partir d'échantillons de 300 µl de sang total. Les cartouches Maxwell® CSC sont à usage unique. Comprend :

- 2 × 1 ml Solution de Protéinase K (PK)
- 20 ml Tampon de lyse
- 48 Cartouches Maxwell® CSC
- 50 Plongeurs CSC/RSC
- 50 Tubes d'élution (0,5 ml)
- 20 ml Tampon d'élution

Conditions de stockage : stocker le Kit Maxwell® CSC Blood DNA à 15–30 °C.

Informations relatives à la sécurité : les cartouches de réactifs contiennent de l'éthanol et de l'isopropanol. Ces substances doivent être considérées comme étant inflammables, nocives et irritantes. Les cartouches Maxwell® CSC sont conçues pour être utilisées avec des substances potentiellement infectieuses. Les utilisateurs doivent être munis de protection individuelle appropriée (par ex., gants et lunettes étanches) pour la manipulation de ces substances infectieuses. Il convient de suivre les directives de l'établissement concernant la manipulation et l'élimination de toute substance infectieuse utilisée en conjonction avec ce système.

Attention : manier les cartouches avec précaution – les bords de la bande adhésive peuvent être tranchants.

Informations supplémentaires : les composants du kit Maxwell® CSC Blood DNA ont été validés et des contrôles de qualité ont été menés pour s'assurer qu'ils fonctionnent ensemble. Il n'est pas recommandé de mélanger des composants de plusieurs lots de kits. Utiliser uniquement les composants fournis dans le kit.



3. Indication du produit

Le Kit Maxwell® CSC Blood DNA est conçu pour être utilisé en conjonction avec l'appareil Maxwell® CSC et la méthode de purification de l'ADN Maxwell® CSC Blood comme dispositif médical de diagnostic in vitro (DIV) pour isoler l'ADN automatiquement à partir d'échantillons de sang total humain. L'ADN purifié est adapté aux essais de diagnostic in vitro fondés sur l'amplification.

Le Kit Maxwell® CSC Blood DNA doit être utilisé à une température de 15–30 °C. Toute utilisation en dehors de cette plage de température peut entraîner des résultats suboptimaux.

Les échantillons recueillis dans des tubes de prélèvement de sang traités à l'EDTA, à l'héparine ou au citrate peuvent être utilisés avec le Kit Maxwell® CSC Blood DNA. Le Tableau 1 indique la durée de stockage acceptable des échantillons dans différentes conditions avant purification avec le Kit Maxwell® CSC Blood DNA. Le Kit Maxwell® CSC Blood DNA n'est pas conçu pour être utilisé avec des échantillons prélevés dans d'autres types de tubes ou stockés en dehors des conditions indiquées dans le Tableau 1.

Température de stockage des échantillons	Durée de stockage avant la purification
15–30 °C	Jusqu'à 72 heures
2–10 °C	Jusqu'à 7 jours
–80 °C ou inférieure	Indéfiniment

Le Kit Maxwell® CSC Blood DNA n'est pas destiné à être utilisé comme test spécifique de diagnostic.

Le Kit Maxwell® CSC Blood DNA est destiné à un usage professionnel uniquement. Les résultats de diagnostic obtenus à l'aide de l'ADN génomique purifié avec ce système doivent être interprétés conjointement à d'autres données cliniques ou de laboratoire.

4. Limites d'utilisation du produit

Le Kit Maxwell® CSC Blood DNA n'est pas destiné à être utilisé avec des échantillons de tissus ou de liquides biologiques autres que le sang total humain ; le sang ne peut pas être coagulé.

Le Kit Maxwell® CSC Blood DNA n'est pas conçu pour être utilisé avec des échantillons non humains, notamment les échantillons bactériens ou viraux, ou pour la purification de l'ARN.

Les performances du Kit Maxwell® CSC Blood DNA ont été évaluées en isolant de l'ADN à partir d'échantillons de 50–300 µl de sang total humain avec un taux de leucocytes compris entre 4×10^6 et 10×10^6 leucocytes/ml, en utilisant un volume d'élution de 50–100 µl. Ce kit ne doit pas être utilisé avec des échantillons en dehors de cette plage.

Les performances du Kit Maxwell® CSC Blood DNA ont été évaluées pour déterminer sa compatibilité avec les facteurs potentiellement inhibiteurs de l'amplification d'ADN génomique suivants : hème, alcool, IgG et guanidine. Aucune autre substance n'a été évaluée.

L'utilisateur est tenu de valider la performance des acides nucléiques purifiés dans les applications de diagnostic ultérieures. Des contrôles appropriés doivent être inclus dans les applications de diagnostic ultérieures qui utilisent l'ADN génomique purifié à l'aide du Kit Maxwell® CSC Blood DNA.



5. Avant de commencer

Matériel à fournir par l’utilisateur

- agitateur rotatif pour échantillons de sang liquide (facultatif)
- agitateur vortex
- pipettes et cônes pour le transfert des échantillons dans les cartouches de réactifs préremplies
- tubes de 1,5–2,0 ml pour l’incubation des échantillons (par ex. microtubes de 1,5 ml, Réf. V1231)
- bloc chauffant réglé à 56 °C. **Remarque :** le bloc chauffant doit être réglé à 56 °C. La température réelle du bloc chauffant doit être mesurée en tenant compte de la plage d’étalonnage du thermomètre utilisé.

5.A. Préparation des échantillons de sang total

Capacité de traitement à partir d’échantillons de sang total

Le rendement total en ADN génomique issu d’échantillons de sang total dépend du volume de l’échantillon et du nombre de leucocytes par ml. Chaque cartouche fournie avec le Kit Maxwell® CSC Blood DNA est conçue pour purifier l’ADN génomique à partir de 50–300 µl de sang total, contenant entre 4×10^6 et 10×10^6 leucocytes/ml de sang total (taux typique pour un adulte en bonne santé ; 1). Nous vous recommandons de déterminer le taux de leucocytes de chaque échantillon avant la purification de l’ADN afin de vérifier si le taux est dans la plage requise. Les échantillons en dehors de cette plage peuvent produire des résultats non optimaux.

Remarque : ce kit a été testé avec des échantillons de sang total humain prélevés dans des tubes contenant de l’EDTA, du citrate de sodium ou de l’héparine. Les performances de cette méthode ne sont pas garanties pour d’autres types de tubes de prélèvement de sang. Les échantillons de sang peuvent être frais (stockés entre 15–30 °C jusqu’à 72 heures), réfrigérés (stockés à 2–10 °C jusqu’à sept jours) ou congelés (stockés à –80 °C ou à une température inférieure) avant la purification de l’ADN. Les échantillons congelés doivent être décongelés avant le traitement. Tous les échantillons de sang doivent être mélangés soigneusement avant utilisation.

1. Mélangez tous les échantillons de sang pendant au moins 5 minutes à une température de 15–30 °C.
2. Préparez et marquez des tubes d’incubation adaptés au bloc chauffant réglé à 56 °C.
3. Ajoutez 30 µl de solution de Protéinase K (PK) à chaque tube d’incubation.
4. Ajoutez du sang liquide (entre 50 et 300 µl) à chaque tube d’incubation. Veillez à éviter les caillots, le cas échéant, lors du transfert du sang au tube d’incubation. Ce système ne doit pas être utilisé avec des échantillons de sang coagulés. Changez de cônes pour chaque échantillon afin d’éviter la contamination croisée.
5. Ajoutez 300 µl de tampon de lyse à chaque tube d’incubation. Changez de cônes pour chaque transfert de tampon de lyse afin d’éviter la contamination croisée.
6. Mélangez chaque tube au vortex à la vitesse maximale pendant 10 secondes.
7. Incubez chaque tube dans le bloc chauffant (réglé à 56 °C) pendant 20 minutes. Au cours de cette étape d’incubation, préparez les cartouches comme indiqué à la Section 5.B.



8. Examinez chaque lysat à l'issue de l'incubation. Après le traitement à la Protéinase K, l'échantillon change de couleur et passe du rouge à un brun verdâtre. Si les échantillons ne changent pas de couleur à l'issue du traitement à la Protéinase K, cela indique que ce traitement n'a pas été efficace, ce qui nuira au rendement et à la pureté de l'ADN purifié. Ne poursuivez pas le traitement des échantillons si aucun changement de couleur n'est observé à l'issue de l'incubation avec la Protéinase K.

9. Transférez chaque échantillon de lysat sanguin du tube d'incubation au puits n° 1 d'une cartouche, en utilisant une cartouche par échantillon. (Le puits n° 1 est le plus grand puits de la cartouche). Changez de cônes pour chaque échantillon afin d'éviter la contamination croisée.

   Remarque : un culot noir de microparticules de résine devrait être visible dans le deuxième puits des cartouches Maxwell® CSC. Si la résine n'est pas visible, secouez la cartouche vers le bas pour déloger les particules adhérant à la bande adhésive de la cartouche avant de retirer cette dernière.

5.B. Préparation des cartouches Maxwell® CSC

1. Changez de gants avant de manipuler les cartouches Maxwell® CSC, les plongeurs CSC/RSC et les tubes d'élution. Les cartouches sont placées sur le portoir de la plateforme Maxwell CSC en dehors de l'appareil, et le portoir contenant les cartouches et échantillons est alors transféré à l'appareil pour procéder à la purification. Placez les cartouches à utiliser sur le portoir de la plateforme Maxwell® CSC (Figure 2). Placez chaque cartouche sur le portoir de la plateforme, en vous assurant que le puits n° 1 (le plus grand puits de la cartouche) est le plus éloigné de tube d'élution. Appuyez verticalement sur la cartouche pour bien l'engager dans le portoir. Vérifiez que les deux extrémités de la cartouche sont engagées à fond dans le portoir de la plateforme. Retirez soigneusement la bande adhésive de protection de manière à la retirer intégralement du haut de la cartouche. Assurez-vous que toutes les bandes adhésives et tous les résidus de colle soient bien retirés avant de placer les cartouches dans le portoir de la plateforme.

   (!) **Attention :** maniez les cartouches avec précaution. Les bords de la bande adhésive peuvent être tranchants.

2. Placez un plongeur dans le puits n° 8 de chaque cartouche.

3. Pour chaque cartouche, placez un tube d'élution vide à l'emplacement prévu à cet effet dans le portoir de la plateforme Maxwell® CSC.

   Remarque : utilisez uniquement les tubes d'élution fournis dans le Kit Maxwell® CSC Blood DNA. Les autres tubes d'élution peuvent ne pas être compatibles avec l'appareil Maxwell® CSC et peuvent influencer le processus de purification de l'ADN.

4. Ajoutez 50–100 µl de tampon d'élution au fond de chaque tube d'élution.

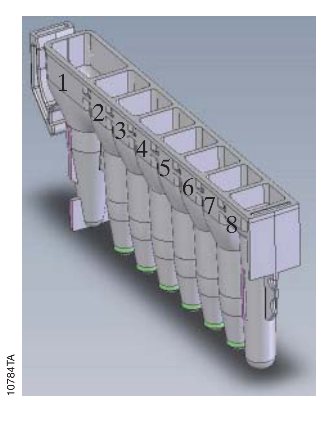
   Remarque : utilisez uniquement le tampon d'élution fourni dans le Kit Maxwell® CSC Blood DNA. L'utilisation d'un autre tampon d'élution peut influencer la purification de l'ADN.



5.B. Préparation des cartouches Maxwell® CSC (suite)

Remarques concernant la préparation des cartouches Maxwell® CSC :

1. Si vous traitez moins de 16 échantillons, centrez les cartouches sur le portoir de la plateforme.
2. Les éclaboussures d'échantillons ou de réactifs présentes sur toute surface du portoir de la plateforme Maxwell® CSC doivent être nettoyées comme indiqué dans le Manuel d'utilisation de l'appareil Maxwell® CSC. N'utilisez d'eau de Javel sur aucune partie de l'appareil.



1. Tampon de liaison
2. Particules de cellulose paramagnétiques
   Remarque : si les particules ne sont pas visibles dans le puits no 2, secouez la cartouche vers le bas pour déloger les particules adhérant à la bande adhésive avant de retirer cette dernière.
3. Tampon de lavage
4. Tampon de lavage
5. Lavage
6. Lavage
7. Vide
8. Vide

Contenu des puits à ajouter par l'utilisateur :

1. Échantillon de sang total lysé
8. Plongeur CSC/RSC

Figure 1. Cartouche Maxwell® CSC. Cette figure illustre le contenu d'une cartouche. L'échantillon de sang total lysé est ajouté au puits n° 1, et un plongeur est ajouté au puits n° 8.



Figure 2. Installation et configuration du portoir de la plateforme Maxwell® CSC. Le tampon d'élution est ajouté aux tubes d'élution comme indiqué.



6. Exécution de l'appareil

Veuillez consulter le Manuel d'utilisation de l'appareil Maxwell® CSC pour de plus amples informations.

1. Mettez sous tension l'appareil Maxwell® CSC et la tablette. L'interface utilisateur de l'appareil va démarrer automatiquement, réaliser une vérification et mettre en position toutes les pièces mobiles.
2. Sélectionnez « Start » (Démarrer) à partir de l'écran d'Accueil.
3. Scannez le code-barres de l'étiquette du Kit Maxwell® CSC Blood DNA ou saisissez-le manuellement afin de sélectionner automatiquement la méthode à exécuter (Figure 3).

   Remarque : le code-barres de la méthode du Kit Maxwell® CSC Blood DNA est requis pour pouvoir purifier l'ADN sur l'appareil Maxwell® CSC. L'étiquette du kit contient deux codes-barres. Celui de la méthode est indiqué dans la Figure 3 ci-dessous.



Figure 3. Étiquette du kit indiquant l'emplacement du code-barres à scanner pour charger la méthode. Le code-barres de la méthode devant être scanné sur l'étiquette du kit pour démarrer une purification est encadré en rouge.

4. Sélectionnez la position des cartouches à traiter (consultez le *Manuel d'utilisation de l'appareil Maxwell® CSC*, no TM373) et scannez ou saisissez manuellement les données de suivi des échantillons.
5. Vérifiez que les échantillons ont été ajoutés au puits nº 1 des cartouches, que les cartouches sont chargées dans l'appareil, que les tubes d'élution contenant 50–100 µl de tampon d'élution sont présents et que les plongeurs ont été placés dans le puits nº 8.



6. **Exécution de l'appareil (suite)**

6. Transférez le portoir de la plateforme Maxwell® CSC contenant les cartouches préparées dans l'appareil Maxwell® CSC. Vérifiez que le portoir est placé dans l'appareil Maxwell® CSC de façon à ce que les tubes d'élution se trouvent du côté de la porte. Le portoir ne peut être inséré dans l'appareil que dans cette orientation. Si vous avez du mal à insérer le portoir sur la plateforme, vérifiez que celui-ci est dans la bonne orientation. Assurez-vous de placer le portoir horizontalement sur la plateforme.

   Remarque : tenez le portoir de la plateforme Maxwell® CSC sur les côtés pour éviter d'en déloger les cartouches.

7. Vérifiez que toutes les étapes de prétraitement requises ont été effectuées, puis appuyez sur « Start » (Démarrer) pour fermer la porte de l'appareil et démarrer la purification.

 **Avertissement :** risque de pincement.

8. L'appareil Maxwell® CSC commencera immédiatement le cycle de purification. L'écran affichera les étapes effectuées ainsi que le temps approximatif restant dans le cycle.

   Remarque : si le cycle est annulé avant la fin, l'appareil libèrera les particules des plongeurs et éjectera ces derniers dans le puits n° 8 de la cartouche. Les échantillons seront perdus. N'essayez pas de repurifier les échantillons après l'annulation d'un cycle de l'appareil.

9. À l'issue du cycle de purification automatisée, l'écran de la tablette affichera un message indiquant que la méthode est finie.

Fin du cycle

10. À la fin de la méthode, suivez les instructions à l'écran pour ouvrir la porte. Vérifiez que les plongeurs sont placés dans le puits n° 8 de la cartouche à la fin du cycle. Retirez le portoir de la plateforme de l'appareil et récupérez les échantillons élués du portoir. Si les plongeurs n'ont pas été éjectés de la barre de fixation des plongeurs, suivez les instructions à l'écran pour effectuer la méthode de nettoyage (Clean Up) pour un cycle annulé, ou sélectionnez cette même méthode à partir de l'écran Settings (Paramètres) pour un cycle terminé normalement. Ceci éjectera les plongeurs encore attachés.

11. Retirez le portoir de la plateforme Maxwell® CSC de l'appareil immédiatement après le cycle pour éviter l'évaporation des éluats. Retirez les tubes d'élution contenant l'ADN et fermez-les.

    Remarque : à l'issue de la procédure de purification automatisée, le portoir de la plateforme Maxwell® CSC peut être chaud au toucher. Tenez le portoir sur les côtés en le retirant de l'appareil.

 Assurez-vous que les échantillons ont été retirés de l'appareil avant d'exécuter un cycle de décontamination par UV pour éviter d'endommager les acides nucléiques purifiés.

12. Retirez les cartouches et les plongeurs du portoir de la plateforme Maxwell® CSC et éliminez le tout en tant que déchets dangereux selon les procédures de votre établissement. Ne réutilisez pas les cartouches Maxwell® CSC, les plongeurs CSC/RSC ou les tubes d'élution.



7. Après la purification

Déterminez si le rendement des échantillons d'ADN et leur pureté répondent aux exigences des essais diagnostiques ultérieurs avant de les utiliser.

8. Dépannage

Pour toute question qui ne serait pas traitée ci-dessous, veuillez consulter une succursale ou un distributeur Promega local. Les coordonnées de ceux-ci sont disponibles au site : **www.promega.com**.
Adresse électronique : **techserv@promega.com**

Symptômes	Causes et commentaires
Concentration moins élevée que prévu	
Un échantillon de 300 µl de sang total comportant entre 4×10^6 et 10×10^6 leucocytes/ml devrait produire > 80 ng/µl d'ADN génomique dans un volume d'élution de 50 µl (concentration déterminée en mesurant l'absorbance à 260 nm).	Du sang ayant été congelé et décongelé plusieurs fois peut contenir de l'ADN dégradé. Utilisez des échantillons prélevés et stockés selon les conditions indiquées dans la Section 3.
	L'échantillon de sang total comportait un faible taux de leucocytes. Le rendement en ADN génomique issu d'échantillons de sang dépend du nombre de leucocytes présents dans l'échantillon.
	La solution de protéinase K n'a pas été ajoutée, un volume incomplet de cette solution a été ajouté, ou la protéinase K n'a pas été suffisamment mélangée avec l'échantillon sanguin avant l'ajout du tampon de lyse. La lyse et le rendement dépendent d'une extraction complète par la protéinase K. Si cette dernière n'a pas été ajoutée à l'étape 3 de la Section 3.A, l'échantillon sanguin résultant sera rouge. Les échantillons traités par la protéinase K passent au brun verdâtre, ce qui permet de vérifier visuellement que cette enzyme a bien été ajoutée aux échantillons.
	L'échantillon de sang total n'a pas été mélangé avant d'être traité. Assurez-vous de mélanger les échantillons de sang total avant le traitement afin de mettre en suspension les leucocytes.



Symptômes	Causes et commentaires
Pureté moins élevée que prévu	
Un échantillon de 300 µl de sang total comportant entre 4 × 10^6 et 10 × 10^6 leucocytes/ml, élué dans un volume de 50 µl, devrait produire de l'ADNg présentant un rapport A_{260}/A_{280} (pureté estimée par l'absorbance à 260 nm divisée par l'absorbance à 280 nm) de 1,7 ou plus et un rapport A_{260}/A_{230} (pureté estimée par l'absorbance à 260 nm divisée par l'absorbance à 230 nm) de 1,5 ou plus.	La solution de protéinase K n'a pas été ajoutée, un volume incomplet de cette solution a été ajouté, ou la protéinase K n'a pas été suffisamment mélangée avec l'échantillon sanguin avant l'ajout du tampon de lyse. La lyse et la pureté dépendent d'une extraction complète par la protéinase K. Si cette dernière n'a pas été ajoutée à l'étape 3 de la Section 3.A, l'échantillon sanguin résultant sera rouge. Les échantillons traités par la protéinase K passent au brun verdâtre, ce qui permet de vérifier visuellement que cette enzyme a bien été ajoutée aux échantillons.

9. Référence

1. Henry, J.B. (2001) *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 20th ed.,W.B. Saunders Company, 509.

10. Summary of Changes

The following change was made to the 1/15 revision of this document:

1. Updated component name from Plongeurs CSC to Plongeurs CSC/RSC.



[a]Brevet américain n° 6 855 499, brevet européen n° 1368629, brevet japonais n° 4399164 et autres brevets en attente.

Maxwell est une marque déposée de Promega Corporation.

Les produits peuvent être protégés par des brevets en instance ou déposés, ou peuvent présenter certaines restrictions. Veuillez visiter notre site Internet pour de plus amples informations.

Tous les prix et toutes les caractéristiques sont sujets à modification sans avis préalable.

Les déclarations relatives aux produits sont sujettes à modification. Veuillez contacter le service technique de Promega ou consulter le catalogue en ligne de Promega pour obtenir les informations les plus récentes sur les produits Promega.